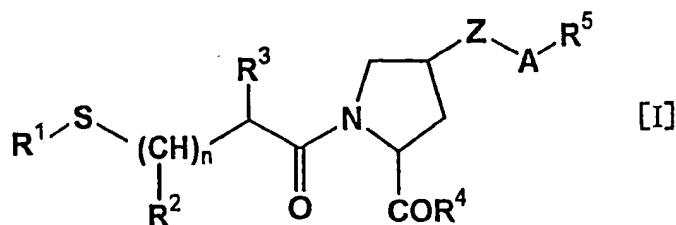




<p>(51) 国際特許分類 C07D 207/16, A61K 31/40, C12N 9/99</p>	<p>A1</p>	<p>(11) 国際公開番号 WO98/43954</p> <p>(43) 国際公開日 1998年10月8日(08.10.98)</p>
<p>(21) 国際出願番号 PCT/JP98/01300</p> <p>(22) 国際出願日 1998年3月25日(25.03.98)</p> <p>(30) 優先権データ 特願平9/74780 1997年3月27日(27.03.97) JP</p> <p>(71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) 参天製薬株式会社 (SANTEN PHARMACEUTICAL CO., LTD.)[JP/JP] 〒533-8651 大阪府大阪市東淀川区下新庄3丁目9番19号 Osaka, (JP)</p> <p>(72) 発明者; および (75) 発明者/出願人 (米国についてののみ) 三田四郎(MITA, Shiro)[JP/JP] 堀内正人(HORIUCHI, Masato)[JP/JP] 伴 正和(BAN, Masakazu)[JP/JP] 藤村健一(FUJIMURA, Kenichi)[JP/JP] 須原 寛(SUHARA, Hiroshi)[JP/JP] 〒533-8651 大阪府大阪市東淀川区下新庄3丁目9番19号 参天製薬株式会社内 Osaka, (JP)</p>		<p>(74) 代理人 弁理士 岸本瑛之助, 外(KISHIMOTO, Einosuke et al.) 〒542-0086 大阪府大阪市中央区西心斎橋1丁目13番18号 イナバビル3階 Osaka, (JP)</p> <p>(81) 指定国 CA, CN, KR, NO, US, 欧州特許 (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).</p> <p>添付公開書類 国際調査報告書</p>
<p>(54)Title: LEUKOTRIENE A₄ HYDROLAZE INHIBITORS</p> <p>(54)発明の名称 ロイコトリエンA₄ヒドロラーゼ阻害剤</p> <p>(57) Abstract Leukotriene A₄ hydrolaze inhibitors containing a compound of general formula (I) or a salt thereof as the active ingredient, wherein R¹ represents hydrogen, alkyl, phenylalkyl, alkanoyl or benzoyl; R² and R³ each represent hydrogen or alkyl; R⁴ represents hydroxyl, alkoxy, phenylalkoxy, amino, alkylamino or phenylalkylamino; R⁵ represents phenylalkyl or naphthylalkyl; Z represents sulfur or oxygen; A represents alkylene; and <u>n</u> represents 0, 1 or 2, provided that the phenyl ring in R¹ may be substituted with alkyl, alkoxy or halogen, and that the phenyl ring or naphthyl ring in R⁵ may be substituted with alkyl, cycloalkyl, alkoxy, alkylthio or halogen.</p> <div style="text-align: center;"> <p>(1)</p> </div>		

本発明は、式[I]の化合物またはその塩類を有効成分とするロイコトリエンA₄ ヒドロラーゼ阻害剤に関する。



R¹ は水素、アルキル、フェニルアルキル、アルカノイルまたはベンゾイルを、R²、R³ は水素またはアルキルを、R⁴ は水酸、アルコキシ、フェニルアルコキシ、アミノ、アルキルアミノまたはフェニルアルキルアミノを、R⁵ はフェニルアルキルまたはナフチルアルキルを、Zは硫黄または酸素を、Aはアルキレンを、nは0、1または2を示す。R¹ 中のフェニル環はアルキル、アルコキシまたはハロゲンで、R⁵ 中のフェニル環、ナフチル環はアルキル、シクロアルキル、アルコキシ、アルキルチオまたはハロゲンで置換されてもよい。

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第一頁に掲載されたPCT加盟国を同定するために使用されるコード(参考情報)

AL	アルバニア	FI	フィンランド	LR	リベリア	SK	スロヴァキア
AM	アルメニア	FR	フランス	LS	レソト	SL	シエラ・レオネ
AT	オーストリア	GA	ガボン	LT	リトアニア	SN	セネガル
AU	オーストラリア	GB	英国	LU	ルクセンブルグ	SZ	スワジランド
AZ	アゼルバイジャン	GD	グレナダ	LV	ラトヴィア	TD	チャード
BA	ボスニア・ヘルツェゴビナ	GE	グルジア	MC	モナコ	TG	トーゴ
BB	バルバドス	GH	ガーナ	MD	モルドヴァ	TJ	タジキスタン
BE	ベルギー	GM	ガンビア	MG	マダガスカル	TM	トルクメニスタン
BF	ブルキナ・ファソ	GN	ギニア	MK	マケドニア旧ユーゴスラヴィア	TR	トルコ
BG	ブルガリア	GW	ギニア・ビサウ		共和国	TT	トリニダード・トバゴ
BJ	ベナン	GR	ギリシャ	ML	マリ	UA	ウクライナ
BR	ブラジル	HR	クロアチア	MN	モンゴル	UG	ウガンダ
BY	ベラルーシ	HU	ハンガリー	MR	モーリタニア	US	米国
CA	カナダ	ID	インドネシア	MW	マラウイ	UZ	ウズベキスタン
CF	中央アフリカ	IE	アイルランド	MX	メキシコ	VN	ヴェトナム
CG	コンゴ	IL	イスラエル	NE	ニジェール	YU	ユーゴスラビア
CH	スイス	IS	アイスランド	NL	オランダ	ZW	ジンバブエ
CI	コートジボアール	IT	イタリア	NO	ノールウェー		
CM	カメルーン	JP	日本	NZ	ニュージーランド		
CN	中国	KE	ケニア	PL	ポーランド		
CU	キューバ	KG	キルギスタン	PT	ポルトガル		
CY	キプロス	KP	北朝鮮	RO	ルーマニア		
CZ	チェッコ	KR	韓国	RU	ロシア		
DE	ドイツ	KZ	カザフスタン	SD	スーダン		
DK	デンマーク	LC	セントルシア	SE	スウェーデン		
EE	エストニア	LI	リヒテンシュタイン	SG	シンガポール		
ES	スペイン	LK	スリ・ランカ	SI	スロヴェニア		

明 細 書

ロイコトリエン A₄ ヒドロラーゼ阻害剤技術分野

本発明はメルカプトアシルプロリン誘導体を有効成分とする
5 るロイコトリエン A₄ ヒドロラーゼ阻害剤に関するものであ
 って、特にリウマチ等の炎症性疾患の治療剤として有用な薬
 物を提供するものである。

背景技術

10 エポキシドヒドロラーゼの一つであるロイコトリエン A₄
 (以下、L T A₄ と略記する) ヒドロラーゼは、活性中心に
 亜鉛を必要とする金属含有酵素である。

 L T A₄ ヒドロラーゼは、L T A₄ から強力な前起炎物質
 であるロイコトリエン B₄ (以下、L T B₄ と略記する) へ
15 の生化学的変換の触媒的役割を果たす。

 L T B₄ は 5-リポキシゲナーゼ経路中において生成する
 アラキドン酸代謝物で、肥満細胞、好中球、単球、マクロフ
 ァージ等を含む種々の細胞で生合成され、炎症の重要なメデ
 ィエーターとしての役割を担っている。L T B₄ は白血球の
20 走化性、凝集、脱顆粒および多形核白血球の蓄積を誘導し、
 血管透過性および浮腫形成を亢進させる。そのため、炎症性
 疾患、例えば、リウマチ (J. Clin. Invest., 66, 116-117
 (1980))、乾癬 (Br. J. Pharmacol., 83, 313-317 (1984))
 、炎症性腸疾患 (Gastroenterology, 86, 453-460 (1984))、
25 痛風 (Lancet, 2, 1122-1124 (1982)) の病変部および嚢胞
 性線維症の喀痰中 (Lancet, 342, 465-469 (1993)) には、
 特に高レベルの L T B₄ が検出されていることが報告されて
 いる。

したがって、 $LT A_4$ ヒドロラーゼを阻害する化合物は、 $LT B_4$ の生成を防止し、リウマチ等の炎症性疾患に対して治療効果を発現すると期待される。

本発明の有効成分であるメルカプトアシルプロリン誘導体
5 はACE阻害作用を有する血圧降下剤として米国特許出願4
316906号明細書またはJ. Med. Chem., 31, 875-885 (19
88)で報告されている。しかしながら、それらのメルカプト
アシルプロリン誘導体のプロリン骨格の4位に置換基を有す
る化合物の $LT A_4$ ヒドロラーゼ阻害作用に関する報告はな
10 い。尚、プロリン骨格の4位に（シクロ低級アルキルフェニ
ル）アルキルグループを有する化合物は文献未知の新規化合
物である。

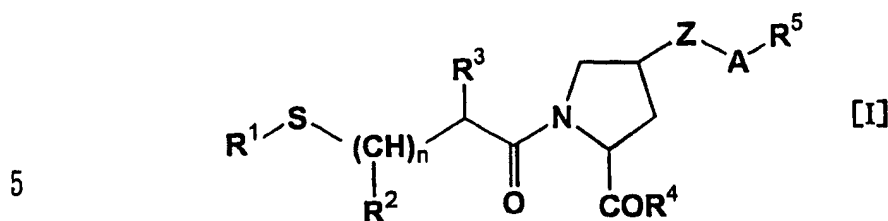
上記のように、メルカプトアシルプロリン誘導体はACE
15 阻害作用を有し血圧降下剤として有用であることが知られて
いるが、それらの化合物の新たな医薬用途を見いだすことは
非常に興味のある課題であった。

本発明者等は、公知のメルカプトアシルプロリン誘導体お
20 よび新規に合成研究したメルカプトアシルプロリン誘導体
についての新たな医薬用途を見いだすべく研究した結果、それ
らの化合物が優れた $LT A_4$ ヒドロラーゼ阻害活性を示すこ
とを見いだした。

25 発明の開示

本発明は、下記一般式[II]で表される化合物またはその塩
類（以下、本化合物とする）を有効成分とする $LT A_4$ ヒド
ロラーゼ阻害剤および下記一般式[II]で示される新規化合物

またはその塩類に関するものである。



[式中、R¹ は水素原子、低級アルキル基、フェニル低級アルキル基、低級アルカノイル基またはベンゾイル基を示し、
 10 該フェニル低級アルキル基および該ベンゾイル基のフェニル環は低級アルキル基、低級アルコキシ基またはハロゲン原子で置換されていてもよい。

R² および R³ は水素原子または低級アルキル基を示す。

R⁴ はヒドロキシ基、低級アルコキシ基、フェニル低級アルコキシ基、アミノ基、低級アルキルアミノ基またはフェニル低級アルキルアミノ基を示す。
 15

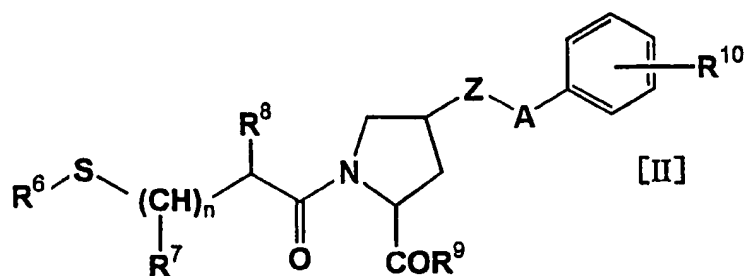
R⁵ はフェニル低級アルキル基またはナフチル低級アルキル基を示し、該フェニル低級アルキル基のフェニル環および該ナフチル低級アルキル基のナフチル環は低級アルキル基、
 20 シクロ低級アルキル基、低級アルコキシ基、低級アルキルチオ基またはハロゲン原子で置換されていてもよい。

Z は硫黄原子または酸素原子を示す。

A は低級アルキレン基を示す。

n は 0、1 または 2 を示す。以下、同じ。]

25



5

[式中、 R^6 は水素原子、低級アルキル基、フェニル低級アルキル基、低級アルカノイル基またはベンゾイル基を示し、該フェニル低級アルキル基および該ベンゾイル基のフェニル環は低級アルキル基、低級アルコキシ基またはハロゲン原子で置換されていてもよい。

R^7 および R^8 は水素原子または低級アルキル基を示す。

R^9 はヒドロキシ基、低級アルコキシ基、フェニル低級アルコキシ基、アミノ基、低級アルキルアミノ基またはフェニル低級アルキルアミノ基を示す。

R^{10} はシクロ低級アルキル基を示す。

Z は硫黄原子または酸素原子を示す。

A は低級アルキレン基を示す。

n は 0、1 または 2 を示す。以下、同じ。]

上記で規定した基をさらに詳細に説明する。低級アルキルとはメチル、エチル、プロピル、ブチル、ヘキシル、イソブチル等の炭素原子が 1～6 個の直鎖または分枝の低級アルキルを示す。低級アルカノイルとはアセチル、プロピオニル、ブチリル、ヘキサノイル、イソブチリル、ピバロイル等の 2～6 個の炭素原子を有する直鎖または分岐のアルカノイルを示す。低級アルコキシとは、メトキシ、エトキシ、プロポキシ、ブトキシ、ヘキシルオキシ等の炭素原子が 1～6 個の直鎖または分枝の低級アルコキシを示す。シクロ低級アルキル

とは、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロヘプチル、シクロオクチル等の炭素原子が3～8個の炭素原子を有する環状のシクロ低級アルキルを示す。ハロゲン原子とは、フッ素、塩素、臭素またはヨウ素を示す。低級アルキレンとは、メチレン、エチレン、プロピレン、ブチレン等の炭素数1～6の直鎖または分岐の低級アルキレンを示す。

上記化合物の好ましい例として下記のもの挙げられる。

・上記一般式[I]において R^1 が水素原子、低級アルカノイル基またはベンゾイル基を、特に好ましくは水素原子を示す化合物またはその塩類。

・上記一般式[I]において R^2 が水素原子または低級アルキル基を、特に好ましくは水素原子を示す化合物およびその塩類。

・上記一般式[I]において R^3 が水素原子または低級アルキル基を、特に好ましくはメチル基を示す化合物およびその塩類。

・上記一般式[I]において R^4 がヒドロキシ基または低級アルコキシ基を、特に好ましくはヒドロキシ基を示す化合物およびその塩類。

・上記一般式[I]において R^5 が低級アルキル基、シクロ低級アルキル基、低級アルコキシ基もしくは低級アルキルチオ基に置換されてもよいフェニル基またはナフチル基を、より好ましくは低級アルキル基またはシクロ低級アルキル基に置換されてもよいフェニル基を、特に好ましくは、イソプロピルベンジル基、*t*-ブチルベンジル基またはシクロヘキシル基に置換されてもよいフェニル基を示す化合物およびその塩類。

・上記一般式[I]においてZが硫黄原子または酸素原子を示し、特に好ましくは硫黄原子を示す化合物およびその塩類。

・上記一般式[I]においてAが低級アルキレン基を示し、特に好ましくはメチレン基を示す化合物およびその塩類。

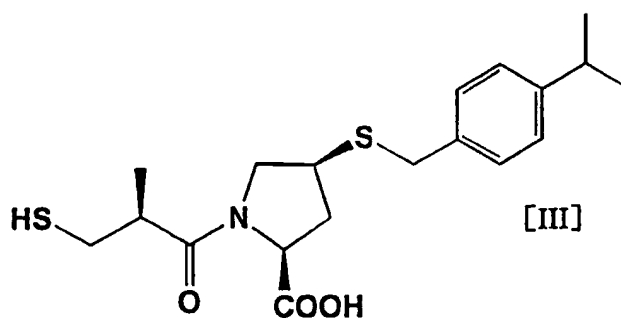
5 ・上記一般式[I]においてnが0、1または2を示し、特に好ましくは1を示す化合物およびその塩類。

特に好ましい化合物の具体例として下記式[III]、[IV]および[V]で示される(4S)-4-(4-イソプロピルベンジルチオ)-1-[(2S)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル]-L-プロリン、(4S)-4-(4-t-ブチルベンジルチオ)-1-[(2S)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル]-L-プロリン若しくは(4S)-4-(4-ヘキシルベンジルチオ)-1-[(2S)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル]-L-プロリンまたはそれらの塩類が挙げられる。

10

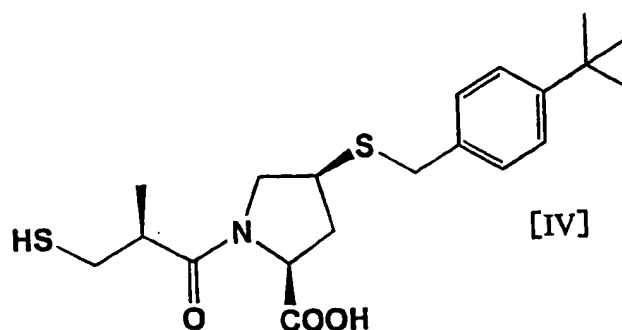
15

20

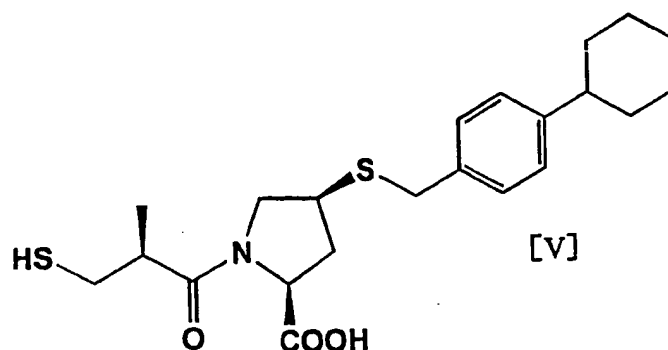


25

5



10



上記一般式 [II] で示される新規化合物の好ましい化合物の例として下記のもの挙げられる。

- 15 ・ 上記一般式 [II] において R^6 が水素原子、低級アルカノイル基またはベンゾイル基を、特に好ましくは水素原子を示す化合物およびその塩類。

・ 上記一般式 [II] において R^7 が水素原子、低級アルキル基を、特に好ましくは水素原子を示す化合物およびその塩類。

- 20 ・ 上記一般式 [II] において R^8 が水素原子、低級アルキル基を、特に好ましくはメチル基を示す化合物およびその塩類。

・ 上記一般式 [II] において R^9 がヒドロキシ基または低級アルコキシ基を、特に好ましくはヒドロキシ基を示す化合物およびその塩類。

- 25 ・ 上記一般式 [II] において R^{10} がシクロ低級アルキル基を、特に好ましくはシクロヘキシル基を示す化合物およびその塩類。

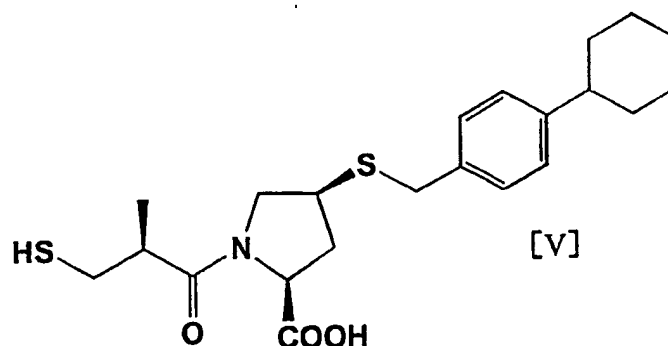
・ 上記一般式 [II] において Z が硫黄原子または酸素原子を示

し、特に好ましくは硫黄原子を示す化合物およびその塩類。

・上記一般式[II]においてAが低級アルキレンを示し、特に好ましくはメチレン基を示す化合物およびその塩類。

・上記一般式[II]においてnが0、1または2を示し、特に好ましくは1を示す化合物およびその塩類。

特に好ましい化合物の具体例として下記式[V]で示される(4S)-4-(4-ヘキシルベンジルチオ)-1-[(2S)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル]-L-プロリンおよびその塩類が挙げられる。



上記の塩類とは、医薬として許容される塩類であればよく、例えば塩酸塩、硫酸塩、リン酸塩、乳酸塩、マレイン酸塩、フマル酸塩、シュウ酸塩、メタンスルホン酸塩、パラトルエンスルホン酸塩等が挙げられる。また、上記化合物にはジアステレオ異性体および光学異性体が存在するが、それらはすべて本発明に含まれる。さらに上記化合物は溶媒和、例えば水和物、エタノール和物等の形態をとっていてもよい。

一般式[I]で表されるメルカプトアシルプロリン誘導体(以下、本化合物という)の有用性を調べるべく、それらのLT₄ヒドロラーゼに対する作用を検討した。詳細については後述の薬理試験の項で示すが、基質としてLT₄を用い酵素反応で生じるLT₄量を指標として検討した結果、

本化合物は $LT A_4$ ヒドロラーゼに対し強い阻害活性を示した。このことから、本化合物は $LT A_4$ が関与する幅広い疾患、特にリウマチ、乾癬、炎症性腸疾患、痛風、嚢胞性線維症等の炎症性疾患の治療に有用であることが期待される。

- 5 薬理試験の結果として、一般式 [I] で表される化合物の内、 R^1 が水素原子、 R^4 がヒドロキシ基で示される化合物、いわゆる活性本体についてのみ例示したが、これらの化合物は勿論プロドラッグの形態でも投与できる。したがって、 R^1 が、メルカプト基の保護基として汎用されるグループ、即ち、
- 10 低級アルキル基、フェニル低級アルキル基、低級アルカノイル基またはベンゾイル基である化合物も本発明に包含されることはいうまでもない。また、カルボキシ基においてもエステルやアミドの形に変換してプロドラッグとする技術が汎用されており、 R^4 が低級アルコキシ基、フェニル低級アルコ
- 15 キシ基、アミノ基、低級アルキルアミノ基またはフェニル低級アルキルアミノ基で示される化合物も勿論本発明に包含される。

- 本化合物は経口でも、非経口でも投与することができる。投与剤型としては、錠剤、カプセル剤、顆粒剤、散剤、注射
- 20 剤等が挙げられ、汎用されている技術を用いて製剤化することができる。例えば錠剤、カプセル剤、顆粒剤、散剤等の経口剤であれば、乳糖、結晶セルロース、デンプン、植物油等の増量剤、ステアリン酸マグネシウム、タルク等の滑沢剤、ヒドロキシプロピルセルロース、ポリビニルピロリドン等の
- 25 結合剤、カルボキシメチルセルロース、カルシウム、低置換ヒドロキシプロピルメチルセルロース等の崩壊剤、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、マクロゴール、シリコン樹脂等のコーティング剤、ゼラチン皮膜剤などを必要に応じて加

えればよい。

本化合物の投与量は症状、年齢、剤型等によって適宜選択できるが、経口剤であれば通常1日あたり0.1～5000mg、好ましくは1～1000mgを1回または数回に分けて投与すればよい。

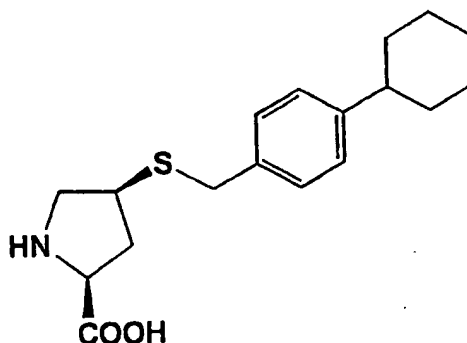
発明を実施するための最良の形態

以下に、本発明の製造例および本発明の薬理試験の結果を示すが、これらの例は本発明をよりよく理解するためのものであり、本発明の範囲を限定するものではない。

[製造例]

参考例1

(4S)-4-(4-ヘキシルベンジルチオ)-L-プロリン(参考化合物1)



(4S)-4-メルカプト-L-プロリン塩酸塩(300mg)に2N水酸化ナトリウム(1.6ml)を加え0℃で攪拌する。これに4-シクロヘキシルベンジルクロリド(340mg)のエタノール(5ml)/クロロホルム(1ml)混合溶液を加え室温で一晩攪拌する。反応液を減圧濃縮し析出した結晶を濾別する。結晶を水、エタノールおよびジエチルエーテルの順で洗浄し、標記化合物470mg(91%)

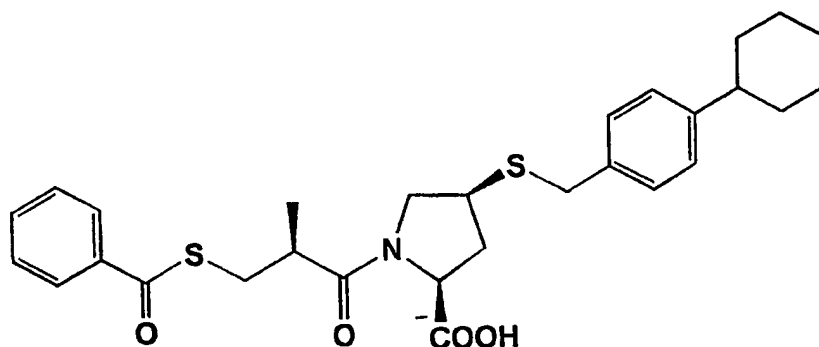
を得る。

m p 208.9 ~ 210.3 °C

実施例 1

- 5 1 - [(2S) - 3 - ベンゾイルチオ - 2 - メチルプロピ
オニル] - (4S) - 4 - (4 - シクロヘキシルベンジルチ
オ) - L - プロリン
(化合物 1)

10



15

- (4S) - 4 - (4 - ヘキシルベンジルチオ) - L - プロ
リン (430 mg) にジメチルホルムアミド (4.5 ml)
を加え、混合物を 0 °C に冷却する。トリエチルアミン (0.
21 ml) と (2S) - 3 - (ベンゾイルチオ) - 2 - メチ
20 ルプロピオン酸 (4 - ニトロフェニル) エステルを順次加え、
混合液を室温で一晩攪拌する。これに 10 % クエン酸水溶液
を加え酢酸エチルで抽出し、有機層を水と飽和食塩水で順次
洗浄後、硫酸ナトリウムで乾燥する。減圧濃縮により得られ
る残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィで精製し、標
25 記化合物 580 mg (81 %) をアモルファスとして得る。

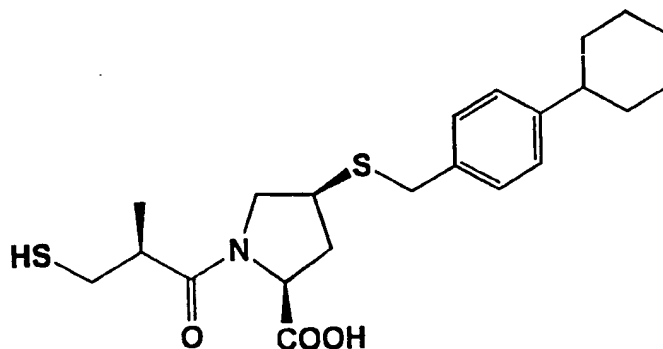
$[\alpha]_D^{20} - 73.4^\circ$ (c = 0.5, メタノール)

I R (F i l m, cm^{-1}) 2924, 1744, 1659,
1447, 1207, 915, 755, 689

実施例 2

(4S) - 4 - (4 - ヘキシルベンジルチオ) - 1 -
 [(2S) - 3 - メルカプト - 2 - メチルプロピオニル] -
 5 L - プロリン (化合物 2)

10



窒素雰囲気下、1 - [(2S) - 3 - ベンゾイルチオ - 2 -
 15 メチルプロピオニル] - (4S) - 4 - (4 - シクロヘキシルベンジルチオ) - L - プロリン (500 mg) に 28% アンモニア水 (9 ml) を加え、室温で一時間攪拌する。反応液に酢酸エチルを加え水で抽出する。水層を 0℃ に冷却し 6N 塩酸を加え pH 2 とし、酢酸エチルで抽出し、有機層を飽和食塩水で洗浄後、硫酸マグネシウムで乾燥する。減圧濃縮により得られる残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、標記化合物 340 mg (87%) をアモルファスとして得る。

$[\alpha]_D^{20} - 50.4^\circ$ (c = 0.5, メタノール)
 IR (Film, cm^{-1}) 2924, 1736, 1641,
 25 1612, 1463, 1446, 756

尚、上記製造例の原料として用いた (4S) - 4 - メルカプト - L - プロリン塩酸塩は J. Org. Chem., 46, 4182-4187

(1981)に、(2S)-3-(ベンゾイルチオ)-2-メチルプロピオン酸(4-ニトロフェニル)エステルは特開平8-301840号公報に記載されている。

5 [薬理試験]

LT A₄ ヒドロラーゼ活性の測定法として、基質としてLT A₄ を用い、酵素反応で生じるLT B₄ 量を測定することで酵素活性を測定する Izumi らの方法が知られている(Biochem. Biophys. Res. Commun., 135, 139-145 (1986))。

10 そこで、この文献に記載された方法に準じて、本化合物のLT A₄ ヒドロラーゼへの作用を検討した。

(実験方法)

酵素標品としては、Izumi らの方法(Biochem. Biophys. Res. Commun., 135, 139-145 (1986)) および Evansらの方法(Biochem. Biophys. Acta, 840, 43-50 (1985)) に準じて、以下の方法によりモルモット肺から粗抽出したものを用いた。

Hartley 系モルモット(体重330g)から肺を摘出し、氷冷下、肺重量の3倍量のリン酸緩衝液(50mM、pH7.4、1mMのエチレンジアミン四酢酸(EDTA)および1mMのジチオトレイトール(DTT)を含む)中でホモジナイズした後、20分間低速遠心(800×g)、20分間高速遠心(10000×g)さらに60分間超遠心(100000×g、60分)して上清を得た。氷冷下、この上清を、
25 これに飽和硫酸アンモニウム水溶液(pH7.0~7.2、1mMのDTTを含む)を滴下することによって、40%飽和とした後、20分間高速遠心(10000×g)した。さらにその上清を、これに飽和硫酸アンモニウム水溶液(pH

7. 0 ~ 7. 2、1 mMのDTTを含む) を滴下することによって、70%飽和とした後、20分間高速遠心(10000 × g)した。得られたペレットをトリス-酢酸緩衝液(20 mM、pH 7. 8、1 mMのDTTを含む) 2 mlに溶解し、2リットルの同溶液中で透析することにより酵素標品を得た。

基質であるLT₄A₄は、LT₄A₄メチルエステルを加水分解することにより調製し、エタノールに溶解したものを用いた。

- 10 次に、被験化合物の酵素標品への作用を検討するため、表1の組成の混合溶液を用いて下記の反応条件で反応させた。

表 1

へpes緩衝液	50 mM、pH 7. 8
酵素標品	0. 4 ~ 0. 6 mg たん白
LT ₄ A ₄	63 μM
DTT水溶液	3 mM
被験化合物	10 ⁻⁸ ~ 10 ⁻³ M

15 上記溶液50 μlを37℃で1分間インキュベーションした。氷冷下、反応液にアセトニトリル-エタノール-酢酸混合液(150 : 50 : 3, 容積比) 100 μlを加え、-20℃で30分間放置した後、5分間高速遠心(10000 × g)して上清を得た。その上清中のLT₄B₄生成量を高速液体クロマトグラフィーにて測定した。

- 25 被験化合物のLT₄A₄ヒドロラーゼに対する阻害作用の程度は、下記の式より求めた阻害率で示す。

$$\text{阻害率 (\%)} = \frac{A - B}{A} \times 100$$

- 5 A : 被験化合物非存在下での L T B₄ 生成量
 B : 被験化合物存在下での L T B₄ 生成量

(結果)

- 被験化合物の代表例として以下の化合物を用いた実験結果
 10 を表 2 に示す。

化合物 a : 1 - [(2 S) - 3 - メルカプト - 2 - メチルプロピオニル] - (4 S) - 4 - (2 - メチルベンジルチオ) - L - プロリン

- 化合物 b : (4 S) - 4 - (4 - イソプロピルベンジルチオ)
 15 - 1 - [(2 S) - 3 - メルカプト - 2 - メチルプロピオニル] - L - プロリン

化合物 c : (4 S) - 4 - (4 - イソプロピルフェネチルチオ) - 1 - [(2 S) - 3 - メルカプト - 2 - メチルプロピオニル] - L - プロリン

- 20 化合物 d : (4 R) - 4 - (4 - イソプロピルベンジルチオ) - 1 - [(2 S) - 3 - メルカプト - 2 - メチルプロピオニル] - L - プロリン

- 化合物 e : (4 R) - 4 - (4 - イソプロピルベンジルオキシ) - 1 - [(2 S) - 3 - メルカプト - 2 - メチルプロピ
 25 オニル] - L - プロリン

化合物 f : (4 S) - 4 - (4 - t - ブチルベンジルチオ) - 1 - [(2 S) - 3 - メルカプト - 2 - メチルプロピオニル] - L - プロリン

化合物 g : 1 - [(2 S) - 3 - メルカプト - 2 - メチルプロピオニル] - (4 S) - 4 - [4 - (メチルチオ) ベンジルチオ] - L - プロリン

化合物 h : (4 S) - 4 - (4 - ヘキシルベンジルチオ) -
5 1 - [(2 S) - 3 - メルカプト - 2 - メチルプロピオニル]
- L - プロリン

結果は L T A₄ ヒドロラーゼ活性を 50 % 阻害するのに要した濃度 (I C₅₀) として表した。

10

表 2

15

20

	I C ₅₀ (M)
化合物 a	8.4×10^{-7}
化合物 b	5.2×10^{-8}
化合物 c	7.9×10^{-7}
化合物 d	2.9×10^{-7}
化合物 e	8.0×10^{-7}
化合物 f	3.1×10^{-8}
化合物 g	1.2×10^{-7}
化合物 h	3.4×10^{-8}

表 2 に示されるように、本化合物は L T A₄ ヒドロラーゼ活性を低濃度で顕著に阻害することが認められた。

25 上記の薬理試験から、本化合物は優れた L T A₄ ヒドロラーゼ阻害作用を有しており、特に L T B₄ が関与する疾患であるリウマチ、乾癬、炎症性腸疾患、痛風、嚢胞性線維症等の炎症性疾患の治療剤として優れたものであることが期待さ

れる。

産業上の利用可能性

本発明はメルカプトアシルプロリン誘導体を有効成分とする
5 るロイコトリエン A_4 ヒドロラーゼ阻害剤に関するものであ
 って、特に LTB_4 が関与する疾患であるリウマチ、乾癬、
 炎症性腸疾患、痛風、嚢胞性線維症等の炎症性疾患の治療剤
 を提供するものである。

10

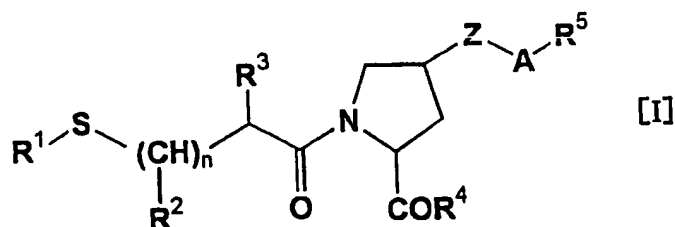
15

20

25

請求の範囲

1. 下記一般式[I]で表される化合物またはその塩類を有効成分とするロイコトリエンA₄ ヒドロラーゼ阻害剤。



10

[式中、R¹ は水素原子、低級アルキル基、フェニル低級アルキル基、低級アルカノイル基またはベンゾイル基を示し、該フェニル低級アルキル基および該ベンゾイル基のフェニル環は低級アルキル基、低級アルコキシ基またはハロゲン原子で置換されていてもよい。

R² および R³ は水素原子または低級アルキル基を示す。
R⁴ はヒドロキシ基、低級アルコキシ基、フェニル低級アルコキシ基、アミノ基、低級アルキルアミノ基またはフェニル低級アルキルアミノ基を示す。

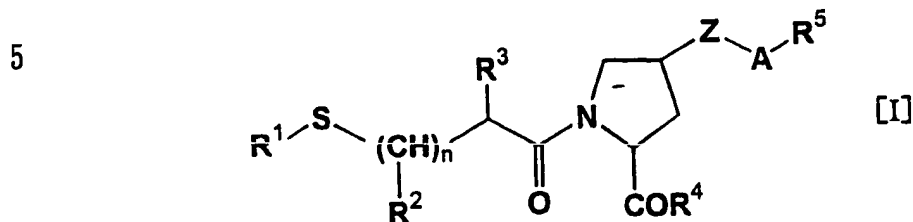
R⁵ はフェニル基またはナフチル基を示し、該フェニル基のフェニル環および該ナフチル基のナフチル環は低級アルキル基、シクロ低級アルキル基、低級アルコキシ基、低級アルキルチオ基またはハロゲン原子で置換されていてもよい。

Z は硫黄原子または酸素原子を示す。

A は低級アルキレン基を示す。

n は 0、1 または 2 を示す。]

2. 下記一般式[I]で表される化合物またはその塩類を有効成分とするロイコトリエンA₄ ヒドロラーゼ阻害剤。



10

[式中、R¹ は水素原子、低級アルカノイル基またはベンゾイル基を示す。

R² および R³ は水素原子または低級アルキル基を示す。

R⁴ はヒドロキシ基または低級アルコキシ基を示す。

15 R⁵ はフェニル基またはナフチル基を示し、該フェニルのフェニル環は低級アルキル基、シクロ低級アルキル基、低級アルコキシ基または低級アルキルチオ基に置換されていてもよい。

Z は硫黄原子または酸素原子を示す。

20 A は低級アルキレン基を示す。

n は 1 を示す。]

3. (4S) - 4 - (4 - イソプロピルベンジルチオ) - 1 - [(2S) - 3 - メルカプト - 2 - メチルプロピオニル] - L - プロリン、(4S) - 4 - (4 - t - ブチルベンジルチオ) - 1 - [(2S) - 3 - メルカプト - 2 - メチルプロピオニル] - L - プロリン若しくは (4S) - 4 - (4 - ヘキシルベンジルチオ) - 1 - [(2S) - 3 - メル

25

カプトー２－メチルプロピオニル]－Ｌ－プロリンまたはそれらの塩類を有効成分とするロイコトリエン A_4 ヒドロラーゼ阻害剤。

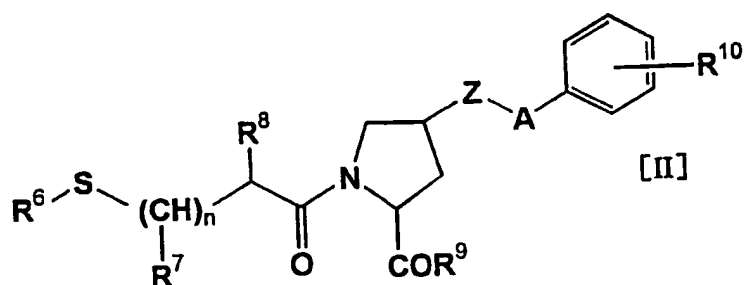
- 5 4. 請求項 1 記載の一般式 [I] で示される化合物またはその塩類を有効成分とする炎症性疾患治療剤。

5. 請求項 1 記載の一般式 [I] で示される化合物またはその塩類を有効成分とする抗リウマチ治療剤。

10

6. 下記一般式 [II] で表される化合物およびその塩類。

15



[式中、 R^6 は水素原子、低級アルキル基、フェニル低級アルキル基、低級アルカノイル基またはベンゾイル基を示し、
20 該フェニル低級アルキル基および該ベンゾイル基のフェニル環は低級アルキル基、低級アルコキシ基またはハロゲン原子で置換されていてもよい。

R^7 および R^8 は水素原子または低級アルキル基を示す。

25 R^9 はヒドロキシ基、低級アルコキシ基、フェニル低級アルコキシ基、アミノ基、低級アルキルアミノ基またはフェニル低級アルキルアミノ基を示す。

R^{10} はシクロ低級アルキル基を示す。

Z は硫黄原子または酸素原子を示す。

A は低級アルキレン基を示す。

n は 0、1 または 2 を示す。]

- 5 7. (4 S) - 4 - (4 - ヘキシルベンジルチオ)
- 1 - [(2 S) - 3 - メルカプト - 2 - メチルプロピオニ
ル] - L - プロリンおよびその塩類。

10

15

20

25

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP98/01300

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁶ C07D207/16, A61K31/40, C12N9/99

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁶ C07D207/16, A61K31/40, C12N9/99

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

REGISTRY (STN), CA (STN), CAPLUS (STN), CAOLD (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US, 4316906, A (E.R. Squibb & Sons, Inc., Princeton, N.J.), February 23, 1982 (23. 02. 82) (Family: none)	1-7
A	J. Med. Chem., Vol. 31, No. 4, (1988), Elizabeth M. Smith et al., "Synthesis and Pharmacological Activity of Angiotensin Converting Enzyme Inhibitors: N-(Mercaptoacyl)-4-substituted(S)-prolines", p.875-885	1-7
A	JP, 55-015457, A (Yoshitomi Pharmaceutical Industries, Ltd.), February 2, 1980 (02. 02. 80) (Family: none)	1-7

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.
 ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

June 2, 1998 (02. 06. 98)

Date of mailing of the international search report

June 9, 1998 (09. 06. 98)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))		
Int. Cl ⁸ C07D207/16, A61K31/40, C12N9/99		
B. 調査を行った分野		
調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))		
Int. Cl ⁸ C07D207/16, A61K31/40, C12N9/99		
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの		
国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)		
REGISTRY (STN), CA (STN), CAPLUS (STN), CAOLD (STN)		
C. 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	US, 4316906, A (E. R. Squibb & Sons, Inc., Princeton, N. J.), 23. 2月. 82 (23. 02. 82) (ファミリーなし)	1-7
A	J. Med. Chem., Vol. 31, No. 4, (1988), Elizabeth M. Smith et al., "Synthesis and Pharmacological Activity of Angiotensin Converting Enzyme Inhibitors: N-(Mercaptoacyl)-4-substituted- (S)-prolines", p. 875-885	1-7
A	JP, 55-015457, A (吉富製薬株式会社) 02. 2月. 80 (02. 02. 80) (ファミリーなし)	1-7
<input type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。		
* 引用文献のカテゴリー 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」 先行文献ではあるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す) 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願日の後に公表された文献 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの 「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの 「&」 同一パテントファミリー文献		
国際調査を完了した日 02. 06. 98	国際調査報告の発送日 09.06.98	
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/JP) 郵便番号 100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員) 後藤 圭次 印	4C 9638
電話番号 03-3581-1101 内線 3454		

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☒ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☐ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.